



## AMILASE CINÉTICA

REF K046

### INSTRUÇÕES DE USO

#### FINALIDADE

Método para a determinação da Alfa-Amilase. Teste cinético, somente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### PRINCÍPIO DE AÇÃO

**Metodologia:** Cinética

A  $\alpha$ -Amilase catalisa a hidrólise do  $\alpha$ -(2-Cloro-4-Nitrofenil)- $\beta$ -1,4-Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2- $\alpha$ -CNP) liberando 2-Cloro-4-Nitrofenol (CNP) e 1,4 Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2). A concentração catalítica é determinada a partir da velocidade de formação do 2-Cloro-4-Nitrofenol, medido a 405 nm.



#### REAGENTES

**Número 1 - Substrato Tamponado** - Conservar entre 2 e 8°C. Contém: Tampão MES, Gal-G2- $\alpha$ -CNP, ativador, estabilizante e conservante.

#### APRESENTAÇÃO

Apresentação	Reagente Nº 1
1	3 x 20 mL
2	5 x 20 mL
3	5 x 40 mL

#### EQUIPAMENTOS E INSUMOS OPERACIONAIS

Espectrofotômetro termostatizado, pipetas, relógio ou cronômetro, tubos de ensaio, Biocontrol N e Biocontrol P Bioclin. Encontram-se no mercado especializado de artigos para Laboratórios de Análises Clínicas.

#### CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO E TRANSPORTE

A temperatura de armazenamento deverá ser de 2 a 8°C. O Transporte em temperaturas entre 15 e 30°C não deverá exceder a 72 (setenta e duas) horas. Manter ao abrigo da luz e evitar umidade. **Não congelar.**

#### CUIDADOS ESPECIAIS

- Somente para uso diagnóstico *in vitro* profissional.**
- Seguir com rigor a metodologia proposta para obtenção de resultados exatos.
- A água utilizada na limpeza do material deve ser recente e isenta de agentes contaminantes.
- Colunas deionizadoras saturadas liberam água alcalina, íons diversos e agentes oxidantes e redutores, que podem alterar de forma significativa os resultados.
- Hemólise visível pode ser causa de ligeiras variações nos resultados.
- O Reagente Nº1 é facilmente contaminado por saliva. Portanto, recomendamos a utilização de máscaras, peras e pipetas automáticas durante o manuseio deste produto.
- Recomendamos aplicar as normas locais, estaduais e federais de proteção ambiental para que o descarte dos reagentes e do material biológico seja feito de acordo com a legislação vigente.

**8-** Para obtenção de informações relacionadas à biossegurança ou em caso de acidentes com o produto, consultar as FISPQ (Ficha de Informações de Segurança de Produtos Químicos) disponibilizadas no site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) ou através de solicitação pelo SAC (Serviço de Assessoria ao Cliente) da Quibasa.

**9-** Não utilizar o produto em caso de danos na embalagem.

**10-** É imprescindível que os instrumentos e equipamentos utilizados estejam devidamente calibrados e submetidos às manutenções periódicas.

#### AMOSTRAS

Soro obtido livre de hemólise, plasma colhido com heparina. Outros anticoagulantes (EDTA, citrato, oxalato) inibem a atividade da Amilase.

Urina - coletar em intervalo de 2 a 24 horas.

A Amilase é estável no plasma, soro ou urina por até 7 dias entre 20 e 25°C e 2 meses entre 2 e 8°C.

#### DESCRIÇÃO DO PROCESSO

#### PREPARO DOS REAGENTES

O reagente é pronto para uso.

#### CONDIÇÕES DE REAÇÃO

É condição indispensável o uso de cubeta termostatizada a 37°C, caminho óptico de 1cm e leitura em 405 nm.

#### TÉCNICA

A Bioclin recomenda, para uso do kit, utilizar como soro controle os kits Biocontrol N e P Bioclin.

#### Soro ou Plasma

Adicionar 20  $\mu$ L de amostra a 1,0 mL do Substrato Tamponado, misturar e transferir para cubeta termostatizada a 37°C. Fazer a leitura inicial, disparando simultaneamente o cronômetro. Repetir as leituras após 1, 2 e 3 minutos. Calcular a média das diferenças de absorvância por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ) e utilizar para cálculo do resultado.

#### Urina

Homogeneizar, medir e anotar o volume urinário em mL e o tempo de coleta da amostra. Proceder a dosagem como descrito para o soro.

#### CÁLCULOS

#### Soro ou Plasma

Amilase (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$   
Os resultados serão expressos em U/L.

#### Urina

Amilase (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$

$$\text{Amilase Urinária (U/h)} = \frac{(\text{Amilase U/L} \times V)}{(H \times 1000)}$$

V = Volume urinário em mL

H = Número de horas da coleta urinária

#### Exemplo

Amilase urinária (valor encontrado na dosagem) = 90 U/L

V = 200 mL

H = 2

$$\text{Amilase Urinária (U/h)} = (90 \times 200) / (2 \times 1000) = 9 \text{ U/h}$$

Para uma variação média na absorvância a 405 nm maior que 0,25, repetir a determinação, diluindo a amostra NaCl 0,85%. Multiplicar o resultado obtido pelo fator de diluição. Para conversão dos dados no Sistema Internacional (SI), multiplicar o resultado: U/L X 0,01667 =  $\mu\text{kat/L}$

#### LIMITAÇÕES DO PROCESSO

As especificações abaixo referem-se a equipamentos semi-automáticos:

O método cinético baseia-se na absorvidade molar, por essa razão, as leituras devem ser realizadas em um espectrofotômetro que cumpra as seguintes condições:

Comprimento de onda 405 nm

Semi trajetória da banda de passagem 10 nm

Luz espúria menor que 0,5%

Cubeta de 1cm termostatizada

#### INTERFERENTES

A saliva contém Amilase. Portanto, não deve-se pipetar com a boca e evitar o contato do reagente com a pele. A lipemia (Triglicérides até 1000 mg/dL) e a Bilirrubina (até 20 mg/dL) não interferem com a metodologia. Hemoglobina a 2,5 g/L interfere nos resultados. Algumas drogas podem interferir nos resultados laboratoriais elevando os níveis séricos da Amilase (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) ou diminuindo, como nos casos de envenenamento por barbitúricos.

#### CONTROLE INTERNO DE QUALIDADE

O Laboratório Clínico deve possuir um programa interno de controle da qualidade, onde procedimentos, normas, limites e tolerância para variações sejam claramente estabelecidos. É importante ressaltar que todos os sistemas de medição apresentam uma variabilidade analítica característica, que deve ser monitorada pelos próprios laboratórios. Para tanto, é recomendável a utilização de controles, que permitem avaliar a precisão e a exatidão das dosagens.

#### RASTREABILIDADE

A calibração do kit pode ser feita utilizando o fator de calibração teórico, baseado na absorvidade molar do 2-Cloro-4-Nitrofenol, ou através do calibrador BIOCAL. A Bioclin recomenda o uso do calibrador BIOCAL, que é rastreável ao material de referência IRMM/IFCC-456.

**VALORES DE REFERÊNCIA**

Os valores de referência em U/L para o presente método foram obtidos através da determinação da Alfa-Amilase em populações sadias do sexo masculino e feminino em várias faixas etárias.

Soro: < 90 U/L

Urina: < 450 U/L ou < 30 U/h

Estes valores devem ser usados como orientação, sendo que cada laboratório deverá criar sua faixa de valores de referência, de acordo com a população atendida.

Os resultados fornecidos por este kit devem ser interpretados pelo profissional médico responsável, não sendo o único critério para a determinação do diagnóstico e/ou tratamento do paciente.

**DESEMPENHO DO PRODUTO****CONTROLE DE QUALIDADE****Exatidão****COMPARAÇÃO DE MÉTODOS E ESPECIFICIDADE METODOLÓGICA**

O kit Amilase Cinética foi comparado com outro método para dosagem de Amilase, comercialmente disponível. Foram realizadas 42 análises e os resultados foram avaliados. A equação linear obtida foi  $Y = 1,077X + 0,322$ , com coeficiente de correlação linear igual a 0,999. Com estes resultados, pode-se concluir que o kit apresenta boa especificidade metodológica.

**Precisão****REPETIBILIDADE**

A repetibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
<b>Concentração média (U/L)</b>	110,33	277,60	194,63
<b>Desvio Padrão (U/L)</b>	1,05	2,53	1,44
<b>Coefficiente de variação (%)</b>	0,9	0,9	0,7

**REPRODUTIBILIDADE**

A reprodutibilidade foi calculada a partir de 40 determinações sucessivas durante 3 dias consecutivos, utilizando 3 amostras com concentrações diferentes, obtendo-se os seguintes resultados:

	Amostra 1	Amostra 2	Amostra 3
<b>Concentração média (U/L)</b>	111,73	276,70	194,52
<b>Desvio Padrão (U/L)</b>	1,23	3,46	2,56
<b>Coefficiente de variação (%)</b>	1,10	1,25	1,32

**Sensibilidade**

A sensibilidade foi calculada a partir de 40 determinações de uma amostra isenta da presença de amilase. A média encontrada foi 2,23 U/L, com desvio padrão de 0,42 U/L. A sensibilidade, que indica o limite de detecção do

método, corresponde à média mais 3 vezes o desvio padrão e é igual a 3,49 U/L.

**Linearidade**

A reação é linear até a concentração de 2000 U/L.

**SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**

A Amilase, predominantemente de origem pancreática e salivar, está normalmente presente no sangue e na urina em pequenas quantidades. Eleva-se rapidamente no plasma após o início dos sintomas de pancreatite aguda, onde paralelamente observa-se um aumento da Amilase urinária. Valores aumentados são observados também no infarto mesentérico, úlcera gástrica perfurada, carcinoma de cabeça do pâncreas, caxumba, insuficiência renal, acidose diabética. Níveis plasmáticos diminuídos são observados na hepatite, cirrose hepática, toxemia de gravidez, eclampsia, carcinoma pancreático.

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for a-amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
2. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for a-amylase in human serum and urine using 2-Chloro-4-Nitrophenyl-a-D-Maltotrioxide as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.

**GARANTIA DE QUALIDADE**

Antes de serem liberados para o consumo, todos os reagentes **Bioclin** são testados pelo Departamento de Controle de Qualidade. A qualidade dos reagentes é assegurada até a data de validade mencionada na embalagem de apresentação, desde que armazenados e transportados nas condições adequadas.

**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: ( 31 ) 3439.5454 - Fax: ( 31 ) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Indústria Brasileira

**OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

**ATENDIMENTO AO CONSUMIDOR**

Serviço de Assessoria ao Cliente  
Tel.: 0800 031 5454  
E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro do kit de Amilase Cinética na ANVISA: 10269360079

Revisão: Fevereiro/2015

**SIMBOLOGIA UNIVERSAL**

NÚMERO DE CATÁLOGO



FABRICADO POR



NÚMERO DO LOTE



CONTROLE



DATA DE FABRICAÇÃO



CONTROLE POSITIVO



DATA DE VALIDADE  
(último dia do mês)



CONTROLE NEGATIVO



LIMITE DE TEMPERATURA  
(conservar a)



RISCO BIOLÓGICO



O CONTEÚDO É SUFICIENTE  
PARA <N> TESTES



INFLÂMÁVEL



CONSULTAR INSTRUÇÕES  
DE USO



CORROSIVO



PRODUTO PARA  
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



REPRESENTANTE  
EUROPEU AUTORIZADO



MARCA CE



PROTEGER DA  
LUZ E CALOR



NÃO UTILIZAR SE A  
EMBALAGEM ESTIVER  
DANIFICADA



## AMILASA CINÉTICA

REF K046

### INSTRUCCIONES DE USO

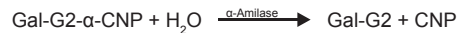
#### FINALIDAD

Método para la determinación de Alfa-Amilasa. Test cinético, solamente para uso diagnóstico *in vitro*.

#### PRINCIPIO DE ACCIÓN

**Metodología:** Cinética

La  $\alpha$ -Amilasa cataliza la hidrólisis de la  $\alpha$ - (2-Cloro-4-Nitrofenil) - $\beta$ -1,4-Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2- $\alpha$ -CNP) liberando 2-Cloro-4-Nitrofenol (CNP) y 1, 4 Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2). La concentración de catalizador se determina a partir de la velocidad de formación de 2-Cloro-4-Nitrofenol, medido a 405 nm.



#### REACTIVOS

**Número 1 - Sustrato Tamponado** - Almacenar entre 2 y 8°C. Contiene: Tampón MÉS, Gal-G2- $\alpha$ -CNP, activador, estabilizador y conservante.

#### PRESENTACIÓN

Presentación	Reactivo Nº 1
1	3 x 20 mL
2	5 x 20 mL
3	5 x 40 mL

#### EQUIPAMIENTOS E INSUMOS OPERACIONALES

Espectrofotómetro termostatzado, pipetas, reloj o cronómetro, tubos de ensayo, Biocontrol N y Biocontrol P Bioclin. Materiales encontrados en el mercado especializado de artículos para Laboratorios de Análisis Clínicas.

#### CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO Y TRANSPORTE

La temperatura de almacenamiento deberá ser de 2 a 8°C. El transporte en temperaturas entre 15 y 30°C no deberá exceder 72 (setenta y dos) horas. Mantener cubierta de la luz y evitar humedad. **No congelar.**

#### CUIDADOS ESPECIALES

- Solamente para el uso diagnóstico *in vitro* profesional.**
- Seguir con rigor la metodología propuesta para obtención de resultados exactos.
- El agua utilizada en la limpieza del material debe ser reciente e exenta de agentes contaminantes.
- Columnas deionizadoras saturadas liberan agua alcalina, iones diversos y agentes oxidantes y reductores, que pueden alterar de forma significativa los resultados.
- Hemólise visible puede ser causa de variaciones en los resultados.
- El Reactivo Nº 1 es fácilmente contaminado por saliva. Por esto, recomendamos la utilización de máscaras, peras e pipetas automáticas cuando se manusea este producto.

7- Se recomienda la aplicación de la ley local, estatal y federal de protección ambiental para la eliminación de reactivos y material biológico se hace de acuerdo con la legislación vigente.

8- Para obtener información relacionada con la seguridad biológica o en caso de accidentes con el producto, consultar la FISPQ (Ficha de Informaciones de la Seguridad de Productos Químicos) disponibles en el site [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) o solicitando a través del SAC (Servicio de Asesoría al Cliente) de Quibasa.

9- No utilice el producto en caso de daños en su embalaje.

10- Es esencial que los instrumentos y equipos utilizados estén adecuadamente calibrados y sometidos a mantenimientos periódicos.

#### MUESTRAS

Suero obtenido libre de hemólisis, plasma cojido con heparina. Otros anticoagulantes (EDTA, citrato, oxalato) iniben la actividad de Amilasa.

Orina - colectar en intervalo de 2 a 24 horas.

La Amilasa es estable en plasma, suero o orina por hasta 7 días a temperaturas entre 20 y 25°C y 2 meses a temperaturas entre 2 y 8°C.

#### DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

##### PREPARO DEL REACTIVO

El reactivo es listo para uso.

##### CONDICIONES DE REACCIÓN

Es condición indispensable el uso de cubeta termostatzada a 37°C, paso de luz de 1 cm y lectura en 405 nm.

#### TÉCNICA

La Bioclin recomienda, para uso del kit, utilizar como suero control los kits Biocontrol N y P Bioclin.

##### Suero o Plasma

Adicionar 20  $\mu$ L de muestra a 1,0 mL del Substrato Tamponado, mezclar y transferir para cubeta termostatzada a 37°C. Hacer la lectura inicial, disparando simultaneamente el cronómetro. Repetir las lecturas después de 1, 2 y 3 minutos. Calcular la media de las diferencias de absorbancia por minuto ( $\Delta A/\text{min.}$ ) y utilizar para cálculo del resultado.

##### Orina

Mezclar, medir y registrar el volumen de orina en mL y el momento de la toma de muestras. Proceder dosis como se describe para el suero.

#### CÁLCULOS

##### Suero o Plasma

Amilasa (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$

Los resultados se expresan como U/L.

##### Orina

Amilasa (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$

$$\text{Amilasa Orinária (U/h)} = \frac{\text{Amilasa U/L} \times \text{V}}{\text{H} \times 1000}$$

V= Volumen orinário em mL

H = Número de horas de recolección de orina

##### Ejemplo

Amilasa orinária(valor encontrado en la dosificación) = 90 U/L

V = 200 mL

H = 2

$$\text{Amilasa orinária (U/h)} = (90 \times 200) / (2 \times 1000) = 9 \text{ U/h}$$

Para una variación media en la absorbancia a 405 nm mayor que 0,25, repetir la determinación, diluyendo la muestra con NaCl 0,85%. Multiplicar el resultado obtenido por el factor de dilución. Para conversión de los dados en Sistema Internacional (SI), multiplicar el resultado:

$$\text{U/L} \times 0,01667 = \mu\text{kat/L}$$

#### LIMITACIONES DEL PROCESO

Las especificaciones abajo refieren a equipamientos semi-automáticos:

El método cinético basease en la absorbtividad molar, por esto, las lecturas deben ser hechas en espectrofotómetro que tenga las condiciones:

Comprimento de onda 405 nm

Semi trajetória da banda de pasagen 10 nm

Luz espúria menor que 0,5%

Cubeta de 1cm termostatzada

#### INTERFERENTES

La saliva contiene Amilasa. Asi, no se debe pipetar con la boca y evitar el contacto del reactivo con la piel. La lipemia (Triglicéridos hasta 1000 mg/dL) y la Bilirrubina (hasta 20 mg/dL) no interfieren con la metodología. Hemoglobina a 2,5 g/L interfiere en los resultados. Algunas drogas pueden interferir en los resultados laboratoriales elevando los niveles séricos de Amilasa (morfina, meperidina, codeína, diuréticos tiazídicos) o disminuyendo, como en casos de envenenamiento por barbitúricos.

#### CONTROL INTERNO DE CALIDAD

El Laboratorio Clínico debe poseer un programa interno de control de calidad, donde procedimientos, normas, límites y tolerancia para variaciones sean claramente establecidos. Es importante resaltar que todos los sistemas de medición presentan una variabilidad analítica característica, que debe ser vigilada por los propios laboratorios. Por lo tanto, es recomendable la utilización de controles, que permiten la evaluación, la precisión y la exactitud de las dosificaciones.

**TRAZABILIDAD**

El kit se puede calibrar usando el factor de calibración teórica basada en la capacidad de absorción molar del 2-Cloro-4-Nitrofenol, o a través del calibrador BIOCAL. Bioclin recomienda el uso del calibrador BIOCAL que es trazable al material de referencia IRMM/IFCC-456.

**VALORES DE REFERENCIA**

Los valores de referencia en U/L para el presente método fueron obtenidos para la determinación de Alfa-Amilasa en poblaciones sanas del sexo masculino y femenino, en varios rangos de edad.

Suero: < 90 U/L

Orina: < 450 U/L o < 30 U/h

Estos valores deben ser usados como orientación, siendo que cada laboratorio debiera crear sus rango de valores de referencia, de acuerdo con la población atendida.

Los resultados proporcionados por este kit deben ser interpretados por el profesional médico responsable, no siendo el único criterio para determinar el diagnóstico y/o tratamiento del paciente.

**DESEMPEÑO DEL PRODUCTO****CONTROL DE CALIDAD****Exactitud****COMPARACIÓN DE METODOS Y ESPECIFICIDAD METODOLÓGICA**

El kit Amilasa Cinética fue comparado con otro método para dosificación de Amilasa comercialmente disponible. Fueron realizadas 42 análisis y los resultados fueron evaluados. La ecuación lineal obtenida fue  $Y = 1,077X + 0,322$ , con coeficiente de correlación igual a 0,999. Con estos resultados se puede concluir que el kit presenta buena especificidad metodológica.

**Precisión****REPETIBILIDAD**

La repetibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
<b>Concentración Promedio (U/L)</b>	110,33	277,60	194,63
<b>Desvío Patrón (U/L)</b>	1,05	2,53	1,44
<b>Coefficiente de variación (%)</b>	0,9	0,9	0,7

**REPRODUCTIBILIDAD**

La reproductibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones sucesivas durante 3 días consecutivos, utilizando 3 muestras con concentraciones diferentes, obteniéndose los siguientes resultados:

	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3
<b>Concentración Promedio (U/L)</b>	111,73	276,70	194,52
<b>Desvío Patrón (U/L)</b>	1,23	3,46	2,56
<b>Coefficiente de variación (%)</b>	1,10	1,25	1,32

**Sensibilidad**

La sensibilidad fue calculada a partir de 40 determinaciones de una muestra exenta de la presencia del amilasa. El promedio encontrado fue 2,23 U/L, con desvío patrón de 0,42 U/L. La sensibilidad, que indica el límite de detección del método, corresponde el promedio mas 3 veces el desvío patrón siendo 3,49 U/L.

**Linealidad**

La reacción es lineal hasta la concentración de 2000 U/L.

**SIGNIFICADO DIAGNÓSTICO**

La Amilasa, predominantemente de origen pancreática e salivar, esta normalmente presente en sangre y orina en pequeñas cantidades. Elevase rapidamente en plasma despues del principio de sintomas de pancreatitis aguda, onde paralelamente observase un aumento de la Amilasa urinária.

Valores aumentados son observados tambien en infarto mesentérico, úlcera gástrica perforada, carcinoma de cabeza de páncreas, paperas, insuficiencia renal, acidosis diabética. Niveles plasmaticos disminuídos son observados en la hepatitis, cirrosis hepática, toxemia de embarazo, eclampsis, carcinoma pancreático.

**REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for a-amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
2. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for a-amylase in human serum and urine using 2-Chloro-4-Nitrophenyl-a-D-Maltotrioxide as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.

**GARANTÍA DE CALIDAD**

Antes de ser liberados para el consumo, todos los reactivos **Bioclin** son testados por el Departamento de Control de Calidad. La calidad de los reactivos es asegurada hasta la fecha de validez mencionada en la caja de presentación, si almacenados y transportados en condiciones adecuadas.

**QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda**

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Tel.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Industria Brasileira

EC REP **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium

**ATENCIÓN AL CONSUMIDOR**

Servicio de Asesoría al Cliente

Tel.: 0800 0315454

E-mail: sac@bioclin.com.br

Número de registro de lo kit de Amilasa Cinética en la ANVISA: 10269360079

Revisión: Febrero/2015

**SIMBOLOGÍA UNIVERSAL**

NÚMERO DEL CATÁLOGO



ELABORADO POR



NÚMERO DE LOTE



CONTROL



FECHA DE FABRICACIÓN



CONTROL POSITIVO



ESTABLE HASTA  
(último día del mes)



CONTROL NEGATIVO



TEMPERATURA LIMITE  
(conservar a)



RIESGO BIOLÓGICO



CONTENIDO SUFICIENTE  
PARA <N> TESTES



INFLAMABLE



CONSULTAR INSTRUCCIONES  
DE USO



CORROSIVO



DISPOSITIVO DE  
DIAGNÓSTICO IN VITRO



TÓXICO



EUROPEA REPRESENTANTE  
AUTORIZADO



MARCADO CE



PROTEGER DEL  
LUZ Y CALOR



NO UTILICE SI EL  
EMBALAJE ESTA  
DAÑADA



## AMYLASE KINETIC

REF K046

### USAGE INSTRUCTIONS

#### FUNCTION

Method for determination of the Alpha-Amylase. Kinetic test, only for *in vitro* diagnostic use.

#### PRINCIPLE OF ACTION

**Methodology:** Kinetic

The  $\alpha$ -Amylase catalyzes the hydrolysis of the  $\alpha$ -(2-Chloro-4-Nitrophenyl)- $\beta$ -1,4-Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2- $\alpha$ -CNP) releasing 2-Chloro-4-Nitrophenol (CNP) and 1,4 Galactopiranosilmaltoside (Gal-G2). The catalyst concentration is determined from the rate of 2-Chloro-4-Nitrophenol formation, measured at 405 nm.



#### REAGENTS

**Number 1 - Buffered Substrate** - Store between 2 and 8°C. Contains: MES buffer, Gal-G2- $\alpha$ -CNP, activator, stabilizer and preservative.

#### PRESENTATION

Presentation	Reagent Nº 1
1	3 x 20 mL
2	5 x 20 mL
3	5 x 40 mL

#### EQUIPMENTS AND OPERATIONAL INPUTS

Thermostated spectrophotometer, pipettes, watch or stopwatches, test tubes, Biocontrol N and Biocontrol P Bioclin. They can be found at markets specialized on Laboratories of Clinical Analysis.

#### TRANSPORTATION AND STORAGE CONDITIONS

The storage temperature should be between 2 to 8°C. The transport at temperatures between 15 and 30°C should not exceed 72 (seventy two) hours. Protect from light and avoid moisture. **Do not freeze.**

#### SPECIAL CARE

**1- For professional *in vitro* diagnostic use only.**

**2-** Strictly follow the methodology proposed to obtain exact results.

**3-** Water used in material cleaning must be recent and free of contaminants.

**4-** Saturated deionizer columns release alkaline water, many ions, oxidizing agents and reducers that may alter the results significantly.

**5-** Visible hemolysis may cause slight variations in results.

**6-** Reagent Nº1 is easily contaminated by saliva. Therefore, we recommend the use of masks, pears and automatic pipettes for handling this product.

**7-** We recommend applying the local, state and federal rules for environmental protection, so that disposal of reagents and biological material can be made in accordance with current legislation.

**8-** To obtain information related to biosafety or in case of accidents with the product, consult the MSDS (Material Safety Data Sheet) available on the website [www.bioclin.com.br](http://www.bioclin.com.br) or upon request by the SAC (Customer Advisory Service) of Quibasa.

**9-** Do not use the product in case of damaged packaging.

**10-** It is essential that the instruments and equipments used are properly calibrated and subjected to periodic maintenance.

#### SAMPLES

Serum obtained free of hemolysis, plasma with heparin. Other anticoagulants (EDTA, citrate, oxalate) inhibit the activity of amylase.

Urine - gather in the range of 2 to 24 hours.

The amylase is stable in plasma, serum or urine for up to 7 days between 20 and 25°C and 2 months between 2 and 8°C.

#### PROCESS DESCRIPTION

#### REAGENTS PREPARATION

The Working Reagent is ready for use.

#### REACTION CONDITIONS

It is indispensable the use of thermostated cuvette at 37°C, light path of 1cm and reading at 405 nm.

#### TECHNIQUE

Bioclin recommends, as control serum, Biocontrol N and P Bioclin Kits.

#### Serum or Plasma

Add 20  $\mu$ L of sample to 1,0 mL of Buffered Substrate, mix and transfer to a thermostated cuvette at 37°C. Make the initial reading, simultaneously starting the timer. Repeat the readings at 1, 2 and 3 minutes. Calculate the mean difference in absorbance per minute ( $\Delta A/\text{min.}$ ) and used to calculate the result.

#### Urine

Mix, measure and note the urinary volume in mL and the time of sample collection. Proceed dosage as described for serum.

#### CALCULATIONS

#### Serum or Plasma

Amylase (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$   
Results are expressed in U/L.

#### Urine

Amylase (U/L) =  $\Delta A/\text{min.} \times 3954$

Urinary Amylase (U/h) =  $\frac{\text{Amylase (U/L)} \times V}{(H \times 1000)}$

V = Urinary volume in mL

H = Hours from urine collection

#### Example

Urinary Amylase (value found in the dosage) = 90 U/L  
V = 200 mL

H = 2

Urinary Amylase (U/h) =  $(90 \times 200) / (2 \times 1000) = 9 \text{ U/h}$

For an average variation in absorbance at 405 nm greater than 0,25, repeat the determination, diluting the sample with 0,85% NaCl. Multiply the result by the dilution factor. To convert the data in the International System (SI), multiply the result: U/L x 0,01667 =  $\mu$ kat/L

#### PROCEDURE LIMITATIONS

The specifications below are for semi-automatic equipment: The kinetic method is based on the molar absorptivity, therefore, the readings should be performed in a spectrophotometer that satisfies the following conditions:  
Wavelength 405 nm  
Semi trajectory of the pass band 10 nm.  
Stray light less than 0,5%.  
1cm thermostated cuvette

#### INTERFERING

Saliva contains amylase. Therefore, you should not pipet by mouth and avoid contact of the reagent with the skin. The lipemia (triglycerides up to 1000 mg/dL) and bilirubin (up to 20 mg/dL) do not interfere with the methodology. Hemoglobin 2,5 g/L affect the results. Some drugs may interfere with laboratory results, elevate the levels of serum amylase (morphine, meperidine codeine, thiazide diuretics) or decreasing, as in cases of barbiturate poisoning.

#### INTERNAL QUALITY CONTROL

The Clinical Laboratory must have an internal quality control, where all procedures, rules, limits and tolerance to variations be clearly established. It is important to mention that all measurement systems present a analytical variety, and it must be monitor by the laboratory. Therefore, it is recommendable the use of controls, allowing the precision and accuracy of the dosages.

#### TRACEABILITY

The kit calibration can be made using the theoretical calibration factor based on the molar absorptivity of the 2-Cloro-4-Nitrofenol, or through the BIOCAL calibrator. Bioclin recommends the usage of the BIOCAL calibrator which is traceable to the reference material IRMM/IFCC-456.

#### REFERENCE VALUES

The reference values in U/L for this method were obtained by determining the Alpha-Amylase in healthy populations of males and females in various age groups.

Serum: < 90 U/L

Urine: < 450 U/L or < 30 U/h

These values should be used as guidelines, each laboratory should establish its range of reference values, according to the population served.

The results provided by this kit must be interpreted by the medical professional responsible, not being the only criterion for the determination of diagnosis and/or treatment of the patient.

## PRODUCT PERFORMANCE

### QUALITY CONTROL

#### Accuracy

#### COMPARISON OF METHODS AND METHODOLOGICAL SPECIFICITY

The Amylase Kinetic kit was compared with another method commercially available to measure Amylase. 42 analysis were conducted and the results were evaluated. The linear equation was obtained  $Y = 1,077X + 0,322$ , with a correlation coefficient equal to 0,999. With these results we can conclude that the kit has good methodological specificity.

#### Precision

##### REPEATABILITY

The repeatability was calculated from 40 successive determinations, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
<b>Average Concentration (U/L)</b>	110,33	277,60	194,63
<b>Standard Deviation (U/L)</b>	1,05	2,53	1,44
<b>Coefficient of Variation (%)</b>	0,9	0,9	0,7

##### REPRODUCIBILITY

The reproducibility was calculated from 40 successive determinations for 3 consecutive days, using 3 samples with different concentrations, obtaining the following results:

	Sample 1	Sample 2	Sample 3
<b>Average Concentration (U/L)</b>	111,73	276,70	194,52
<b>Standard Deviation (U/L)</b>	1,23	3,46	2,56
<b>Coefficient of Variation (%)</b>	1,10	1,25	1,32

#### Sensitivity

The sensitivity was calculated from 40 determinations of a sample free of Amylase. The average found was of 2,23 U/L with standard deviation of 0,42 U/L. The sensitivity, which indicates the method detection limit, corresponds the average plus 3 times the standard deviation and is equal to 3,49 U/L.

#### Linearity

The reaction is linear up to 2000 U/L.

## DIAGNOSTIC SIGNIFICANCE

The Amylase, predominantly of pancreatic and salivary, is normally present in blood and urine in small quantities. Increases rapidly in plasma after the onset of acute pancreatitis, where there is a parallel increase in urinary amylase.

Elevations are also found in mesenteric infarction, perforated gastric ulcer, carcinoma of the head of the pancreas, mumps, kidney failure, diabetic acidosis. Decreased plasma levels are observed in hepatitis, liver cirrhosis, toxemia of pregnancy, eclampsia, pancreatic carcinoma.

## BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

1. Winn-Deen ES, David H, Sigler G and Chavez R. Development of a direct assay for a-amylase. Clin Chem 1988; 34: 2005-2008.
2. Balsells D, Gella FJ, Gubern G, Canalias F. Reference values for a-amylase in human serum and urine using 2-Chloro-4-Nitrophenyl-a-D-Maltotrioxide as substrate. Clin Chim Acta 1998; 274: 213-217.
3. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 2nd edition. Burtis CA, Ashwood ER. WB Saunders Co., 1994.

## QUALITY ASSURANCE

Before being released for consumption, all **Bioclin** reagents are tested by the Department of Quality Control. The quality of reagents is assured until expiration date stated on the presentation packaging, when stored and transported under appropriate conditions.

### QUIBASA QUÍMICA BÁSICA Ltda

Rua Teles de Menezes, 92 - Santa Branca  
CEP 31565-130 - Belo Horizonte - MG - Brasil  
Phone.: +55 (31) 3439.5454 - Fax: +55 (31) 3439.5455  
E-mail: bioclin@bioclin.com.br  
CNPJ: 19.400.787/0001-07 - Made in Brazil

### **OBELIS S.A.**

Bd. Général Wahis, 53  
1030 Brussels, Belgium





















## CUSTOMER SERVICE

Customer Advisory Service  
Phone.: 0800 0315454  
E-mail: sac@bioclin.com.br

ANVISA registration for Amylase Kinetic kit: 10269360079

**Review:** February/2015

## UNIVERSAL SYMBOLOGY

	CATALOG NUMBER		MANUFACTURED BY
	BATCH CODE		CONTROL
	DATE OF MANUFACTURE		POSITIVE CONTROL
	USED BY (last day of month)		NEGATIVE CONTROL
	TEMPERATURE LIMITATION (store at)		BIOLOGICAL RISK
	CONTAINS SUFFICIENT FOR <N> TESTS		INFLAMMABLE
	CONSULT INSTRUCTIONS FOR USE		CORROSIVE
	IN VITRO DIAGNOSTIC DEVICE		POISON
	EUROPEAN AUTHORIZED REPRESENTATIVE		CE MARK
	KEEP AWAY FROM SUNLIGHT		DO NOT USE IF PACKAGE IS DAMAGED